

# 視物質組成の人為的コントロール

## —光を利用した通し回遊魚の行動制御の可能性—

元 独立行政法人水産総合研究センター  
長谷川 英一

### はじめに

生物の視覚の機序を司る視物質は、網膜の視細胞外節に存在します。この視物質と外光との化学反応が視覚を生ずる出発点です。海水域と淡水域の両水域を生活の場としている通し回遊魚の桿体視細胞中には光吸収極大波長がロドプシン<ポルフィシンという特徴を有するこの2種類の視物質が存在しています。そして、海水域で生活するときはロドプシンが、淡水域で生活するときはポルフィロプシンが卓越することが調べられています。さらに、この2種類の視物質の組成変化が予兆的に行われていることも明らかにされています。すなわち、淡水域から海水域へ移動する生活ステージでは、視物質組成がポルフィロプシン>ロドプシンの状態からポルフィロプシン<ロドプシンの状態へと変化し、しかもその変化が完全に海水生活へ移行する前からその兆候が見られます。それとは逆に海水域から淡水域へ移動する生活ステージでは、視物質組成がポルフィロプシン<ロドプシンの状態からポルフィロプシン>ロドプシンの状態へと、完全に淡水生活に移行する前からその変化が見られます (Hasegawa, 2005)。

また、Alexander *et al.* (1994) はロドプシン量が浸透圧調整に関わる甲状腺ホルモンの制御を受けて変化することから、ロドプシン量の変化とサケの降海回遊に先立って起こるスマルト化が対応していると考えました。このように行動と生理とが相互作用的に機能していることは、自然界における生物の生存戦略上当然の現象と考えられます。

本稿では、視物質組成変化という魚類の視覚生理的变化と海水域と淡水域とを往復する回遊行動の關係に着目して、それらを人為的に制御することの可能性について調べることを目的として、先ず視物質組成の光による人為的コントロールの可否について確認することにしました。

### 材料および方法

桿体視物質組成としてロドプシンとポルフィロプシンを有し、その組成変化が海水域と淡水域間での移動にともない起こるサケ科魚類を供試魚にすることが最適と思われましたが、四季を通じて人為的環境下での飼育が容易でしかも塩分耐性のある野生メダカ *Oryzias latipes* を使用することにしました。

山上、嶋 (1990) は、メダカは魚類の生物学にとどまらず、細胞レベルから生態、進化のレベルに至るまでじつに広汎な生物学的研究に貢献していると述べています。

### [予備実験]

本実験に先立ち、下記の予備実験を行いました。供試した野生メダカは三重県津市の志登茂川水系で採集しました。水槽内に収容されたメダカは、人為的な環境変化条件として、塩分濃度、水温、日長時間、そして採集時期の違いによる視物質組成の季節変化について調べました。視物質組成変化の指標としてロドプシン比を計測しました。これは供試魚の網膜から視物質をレチナール・オキシム法により抽出後、HPLCによってロドプシンとポルフィロプシンから成る全視物質量を計測、その全視物質全量に対するロドプシン量の含有割合をロドプシン比と定義しました。抽出および分析手技はSuzuki *et al.* (1984) の方法に従いました。

塩分濃度変化にともなう視物質組成変化は10~12月の期間に水温と日長が自然変動条件の下、塩分濃度0%の場合と0%から21%への変化、さらに35%への変化条件の場合で比較しました。

水温変化にともなう視物質組成変化は10月に日長12L12Dの条件の下、自然環境水温から14℃に下降させた場合と24℃に上昇させた場合とで比較しました。

日長時間変化にともなう視物質組成変化は1月に

水温20℃の条件の下、16L8Dと8L16Dの場合で比較しました。

視物質組成の季節変化は、ほぼひと月毎に採集したメダカのロドプシン比を計測しました。

### [本実験]

茨城県潮来市の利根川水系で採集した供試魚を3基の亚克力製上面ろ過水槽（ニッソー ステイングレーNS-106; 幅×奥行×高さ=60×30×36cm）にそれぞれ100尾ずつ収容しました。この水槽は空調設備のある暗室に設置し、3種類のスティック型LED照明ユニット（スタンレー電気株式会社製）を使用して15L9Dの明暗サイクルで水面上から照射しました。実験期間中の水温は実験室内空調機によって恒常性を保つようにしました。水温の変動幅は21.4～22.5℃でした。

実験水槽を**写真1**に、3種類のLED光源の波長特性を**図1**に示します。なお、室内の空調電源以外は、本システム全体を稼働させるための電源として85Wの太陽光パネル2枚を使用し、100Aバッテリー、充放電コントローラー、DC-ACインバーター（**写真2**）、そして光照射周期をコントロールするためのタイマー等を使用して、不測の事態にも対応できるようにしました。



写真1 LED照明された3基の実験水槽

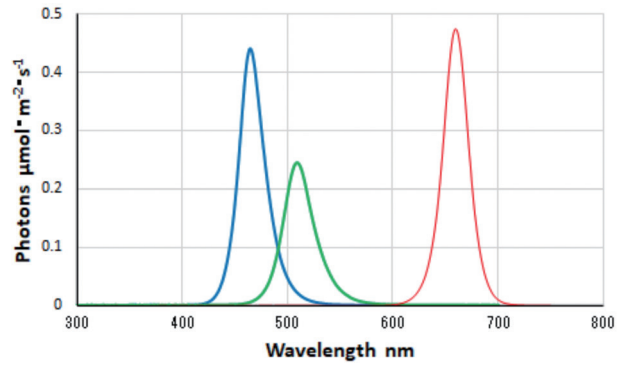


図1 LED照射光の分光エネルギー

視物質組成変化の指標としてのロドプシン比の分析方法は前述の予備実験と同様です。ロドプシン比の分析は供試魚採集直後の7月11日に初期値として計測するとともに3種類の光照射条件を設定後、8、9、10、11月に各水槽とも同月日に計測しました。また、各水槽飼育群の体重を適宜計測して成長率を調べました。さらに、実験終了時に各水槽個体群の海水適応能を調べるために、各水槽に残った個体群を塩分濃度34%の水槽（水温：12.8～14.6℃）に移し、24時間後の生残個体数を調べました。また、この間に減耗した個体と生残した個体の体重を計測しました。なお、本実験、予備実験共に供試魚には給餌率3%で養鯉用ペレットを与えました。

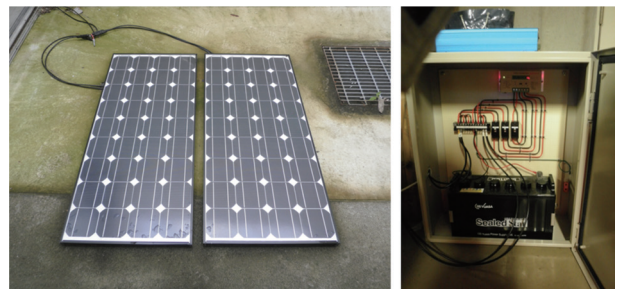


写真2 実験装置の電源として利用した太陽光パネルおよび充放電コントローラ、バッテリー、DC-ACインバーター

## 結果

### [予備実験]

#### 1) 塩分濃度の影響

実験結果を**図2**に示します。採集直後のメダカは塩分濃度0%と21%の2種類の環境で飼育を開始しました。水槽収容後ほぼ10日後のロドプシン比は0%飼育群が65%、21%飼育群が70%と塩分を含む

環境で飼育していた個体群の方がロドプシン比が高くなりました。同様の条件で飼育後20日が経過した場合には、0‰飼育群が $61.0 \pm 9.9\%$ 、21‰飼育群が $56.5 \pm 4.9\%$ となりました。その後0‰飼育群はそのまま塩分濃度を0‰を継続し、21‰飼育群は海水に匹敵する35‰に塩分濃度を上げた環境で飼育しました。その8日後の各水槽個体群のロドプシン比は0‰飼育群が48%、35‰飼育群が60%に変化し、さらにその12日後には0‰飼育群は $60.5 \pm 3.5\%$ 、35‰飼育群は $65 \pm 4.2\%$ になりました。全期間を通して若干変動があるものの塩分濃度が高い飼育群ほどロドプシン比は高い傾向がありました。

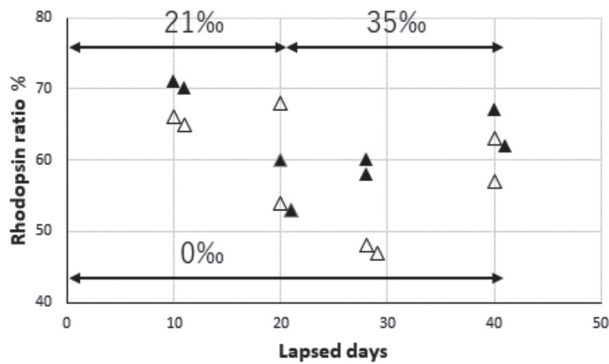


図2 塩分濃度変化とロドプシン比  
△；全期間0‰ ▲；開始時21‰、20日後35‰に変化

## 2) 水温の影響

実験結果を図3に示します。採集したメダカを2群に分け、一方は14℃、他方は27℃の水槽で飼育を開始しました。採集直後のロドプシン比は80%～93%の範囲でしたが、飼育を開始してから2週間後では14℃飼育群は65%、27℃飼育群はほぼ100%に変化しました。さらに飼育を継続し6週間経過しても両群のロドプシン比は同様の値で推移しました。高水温飼育群の方がロドプシン比は明らかに高くなりました。

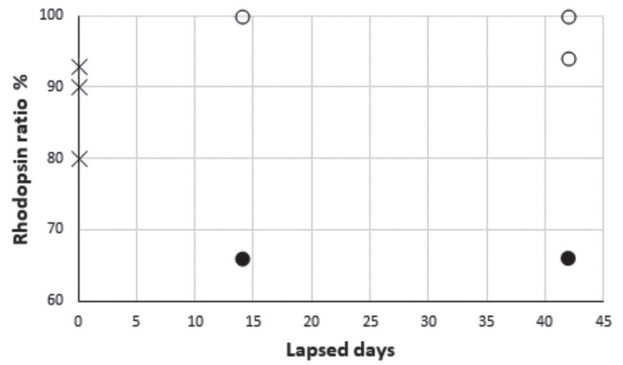


図3 水温変化とロドプシン比  
\*；開始時、○；27℃、●；14℃

## 3) 日長の影響

実験結果を図4に示します。飼育開始直後のロドプシン比は18%でしたが、飼育経過日数が長くなるほど16L8D飼育群の方が8L16D飼育群よりもロドプシン比が高くなる傾向が観察され、飼育開始後27日で16L8D飼育群では $37.5 \pm 4.9\%$ 、8L16D飼育群では $22.5 \pm 0.71\%$ とロドプシン比の差がさらに大きくなりました。本実験は冬季1月に実施しましたが、人為的に日長時間を長くすると、ロドプシン比が高くなるのが観察されました。

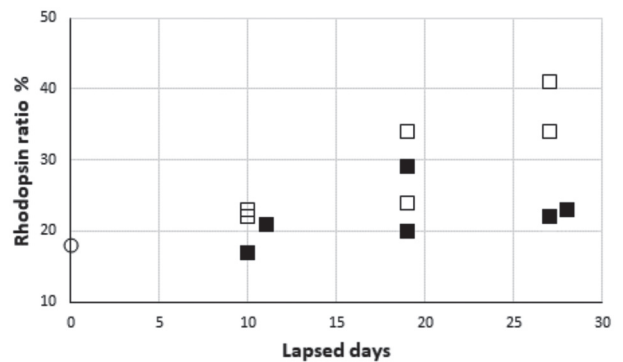


図4 日長時間とロドプシン比  
○；開始時、□；16L8D、■；8L16D

## 4) 季節の影響

実験結果を図5に示します。ロドプシン比は夏季7月に最大値 $90.7 \pm 2.5\%$ 、冬季2月に最小値 $59.5 \pm 3.5\%$ を示し、年間を通してなめらかな変動を呈しました。この結果は、自然環境下における水温変動や日長時間の変動と同調した動きでした。

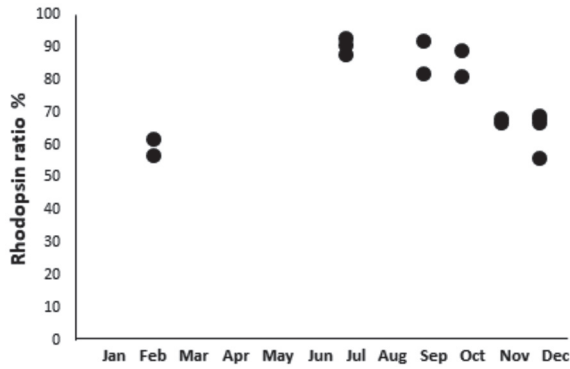


図5 ロドプシン比の季節変動

[本実験]

照射光波長と視物質組成についての実験結果を図6に示します。図中のコントロールは供試魚を採集し、照射波長条件の異なる3つの水槽に収容する直前の5尾の平均ロドプシン比です。ロドプシン比は $86.0 \pm 10.1\%$ となりました。その後、各水槽の個体群のロドプシン比を約1ヶ月おきに計測しました。10月期の値が何れの場合も減少したのは、この時期に実験室の空調の不具合のため水温の恒常性が保たれず水温の低下があったためと考えられます。いずれにしても、各水槽個体群のロドプシン比は採集した7月に最大値を呈したのち一旦減少し、その後は漸増傾向を呈しました。この4ヶ月間のロドプシン比の各水槽の平均値と標準偏差を図7に示します。

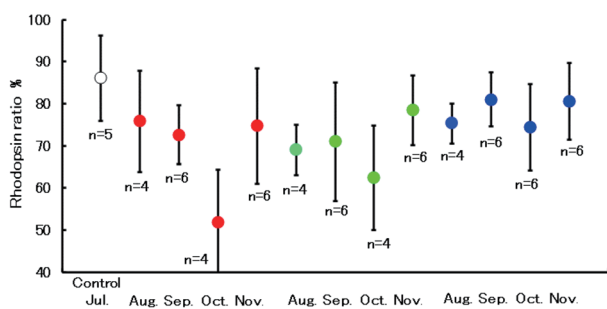


図6 LED光源の波長の違いによるロドプシン比の変動

○；供試魚採集時、●；赤色LED、●；緑色LED、●；青色LED

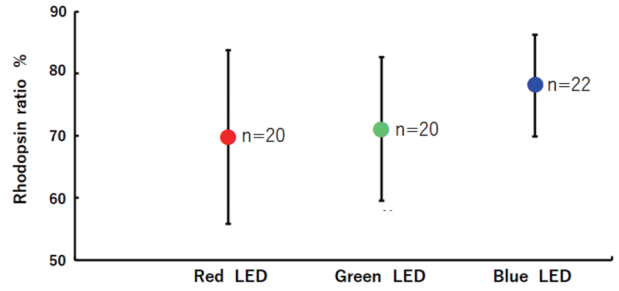


図7 3種類のLED光源飼育下における平均ロドプシン比

Studentのt検定を行ったところ、赤色LEDと緑色LEDで照射された個体群では有意差は認められませんでした。青色LEDで照射された個体群と赤色あるいは緑色LEDで照射された個体群とでは、何れの場合も5%の危険率で有意差が認められ、青色LEDで照射された個体群のロドプシン比は他のLEDと比較して有意にロドプシン比が高くなり、80%ほどの値に達しました。この値はAlexander *et al.* (1994)が述べたサケの降海行動時のロドプシン比の値と一致します。

また、この間の各水槽個体群の体重は図8に示すように、徐々に増加し8月期と比較して実験を終了した11月末では赤色LEDで照射された個体群は2.6倍、緑色LEDで照射された個体群は2.3倍、青色LEDで照射された個体群は3.4倍の増加が認められました。

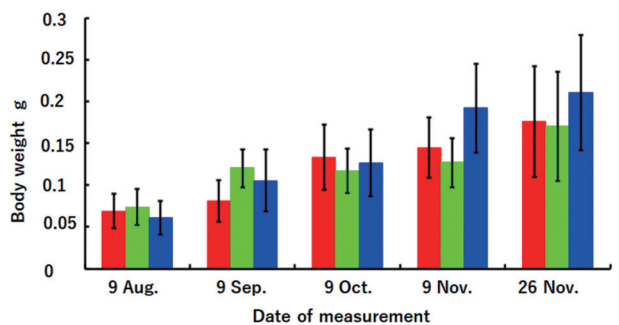


図8 3種類の飼育条件における供試魚の体重変化  
■；赤色LED、■；緑色LED；■；青色LED

実験終了時における各水槽の供試魚数は、視物質組成分析サンプルや自然死亡の影響で減少し、赤色LEDで照射された水槽個体群は19尾、緑色LEDで

照射された水槽個体群は34尾、青色LEDで照射された水槽個体群は23尾でした。塩分濃度が0%であった水槽から実験終了後34%の塩分濃度の水槽内に移す塩分耐性実験を行いました。この実験では水温変化がそれまでの21.4~22.5℃の範囲から12.8~14.6℃の範囲と約10℃急下降させたことが影響したためなのか、減耗尾数がかなり多くみられました。そして、24時間後の生残尾数は赤色LEDが5尾、緑色LEDが2尾、青色LEDが6尾となりました。なお、いずれの水槽とも0.2g以上に成長した個体の生残が良い傾向が観察されました。塩分耐性試験の各水槽の生残率の結果を図9に示します。

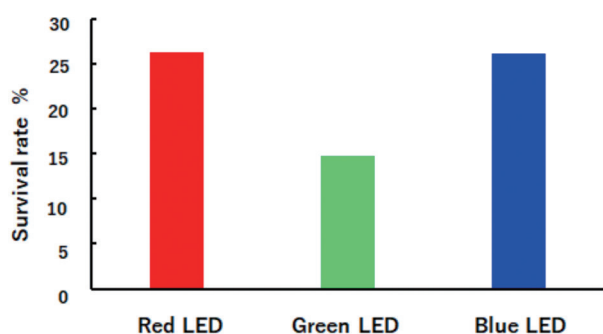


図9 塩分耐性実験による各水槽の生残率

## 考察

動物の行動にはその行動に対応した脳内の神経回路の動機づけ、すなわちその行動に関わる脳内の感覚系と運動系の行動状態を高め、刺激があれば容易に行動が起こせる状態にしておく必要があります(浦野 他, 2004)。例えば、降海行動、産卵回遊、遡上回遊など各生活ステージに応じて様々な行動変化が生ずるサケの回遊はそれに対応する動機づけとして神経生理的機構が関与していると考えられます。特に通し回遊魚であるサケはその生息環境によって浸透圧の調節をする必要があります、その調節にはプロラクチンやコルチゾルといったホルモンの分泌が大きく関与していることが知られています。Temple *et al.* (2008) は甲状腺ホルモン投与によるギンザケ *Oncorhynchus kisutch* の視物質組成変化と季節や水温などの環境条件の変動や季節との関わりを調べています。また、Suzuki *et al.* (1984) は無脊椎動物であるザリガニ *Procambarus clarkii* にもロドプシン-ポルフィロプシン視物質系が存在し、その組成が季節変化すること、そしてその第一義的要因が温

度であることを明らかにしています。

本研究では、通し回遊魚の行動変容に関わる因子として、その行動変容と相俟ってその組成変化を発現することが観察されている視物質を取り上げ、その視物質組成を人為的にコントロールすることが出来るか否かについて調べました。メダカの暗所下での最大視感度と最低閾値を示す波長が520nm付近に存在することが計測されています (Hayasaka *et al.* 2021)。メダカの桿体視物質もサケと同様、ロドプシン-ポルフィロプシン系の2視物質組成を呈するので、それらの $\lambda_{max}$ もサケの値(ロドプシン; 503nm、ポルフィロプシン; 527nm)に近似されるものと考えました。そこで、視物質組成変化を誘引すると考えられる刺激光がもつ極大波長として、視物質の $\lambda_{max}$ に相等すると考えられる509nmのLEDを基準として、それよりも長波長寄りに極大波長660nmをもつLED、そして短波長寄りに極大波長465nmをもつLEDの3種類の光源を用意しました。

予備実験の結果、視物質組成としてロドプシンが卓越するのは高水温時や日長時間が長いときで、夏季にはロドプシンが、冬季にはポルフィロプシンが卓越する季節変化の様相と同様であることが判明しました。塩分濃度に関してはその濃度を高めることによって視物質組成がロドプシンに傾く傾向が見られ、サケの降海行動、産卵行動、遡上行動など各生活ステージに応じてサケの視物質組成が変化するとした研究成果 (Hasegawa, 2005) に反するものではありません。こうした結果からメダカの視物質組成変化を人為的条件によって変化させることが可能であると言えるでしょう。特に日長時間という光刺激に関わる因子や塩分濃度変化という通し回遊に関わる因子によって視物質組成変化が発現したことは、通し回遊魚であるサケの代用魚種としてのメダカの採用や光刺激因子としての波長特性の採用は許容されるものと考えます。

前述したように3種類のLED光源の極大波長は青色LEDが465nm、緑色LEDが509nm、赤色LEDが660nmでした。この中で供試魚メダカの $\lambda_{max}$ に最も近似する波長特性をもつLEDは509nmの極大波長をもつ緑色LED光源です。しかし、視物質組成変化としてロドプシンの卓越を最も誘引した光源は極大波長が465nmの青色LEDでした(図7)。ロドプシンとポルフィロプシンの各光吸収極大波長 $\lambda_{max}$ はロドプシン<ポルフィロプシンの関係である

はずなので、ロドプシンの発現を卓越させるためには、このロドプシンの $\lambda_{\max}$ 値よりもさらに短い波長の影響を受ける方が良いでしょう。その点、赤色LEDの極大波長は660nmでしたので、視物質のノモグラフ (Dartnall, 1953) と照合すると供試魚であるメダカの視感度特性範囲を越える長波長の光を有していたため、ポルフィロプシンの発現を卓越させるには至らなかったものと考えます。

生物が感覚に関わるある種の機能を獲得するためには、その感覚に作用する刺激を被る経験が必要のようです。例えば、サケのふ化仔魚は水底の石に頭を突っ込んでじっとして光を忌避する負の走光性を呈しますが、卵黄を吸収し終わって自ら餌を探す必要が生ずると、浮上して遊泳を開始します。明暗順応に関わる網膜運動反応機能の発現時期を調べると、ふ化仔魚ではこの機能はまだ見られず、浮上稚魚になって初めてこの機能が発達し始めます。そしてこの機能が完成する時期は受精後の積算水温が1330度頃と見積もられます。この網膜運動反応機能について完全遮光状態で飼育した場合と、ある程度自然照度変化という刺激を被る経験をさせて飼育した場合とで比較すると、後者の条件で飼育された稚魚の方が網膜運動反応機能を早く獲得出来ます (長谷川, 2008)。このことから、生物の感覚機能の発達のためにはその機能に関わる刺激が遮断されず受容される状態であることが必要のようです。本研究においても、より短い波長光で照射されるという感覚刺激を経験することがロドプシンの卓越を誘引したと言えるでしょう。

こうした視物質組成変化によって通し回遊魚であるサケの降海行動を制御することが可能になれば、次のような応用が考えられます。サケ稚魚の放流は春季に北日本各地で行われます。各地で放流された稚魚は、自然産卵魚も含め、沿岸でしばらくの間滞留して動物プランクトンを摂餌してエネルギーを蓄えます。この時期、もしこの沿岸環境 (水温や餌量など) がサケにとって不適な状態であれば、そこで大きな減耗が起きてしまいます。沿岸環境が最適状態になる時期にサケが降海回遊出来ればこの問題は解消されます。視物質組成がロドプシン卓越であれば降海行動は活発になるでしょうし、逆にポルフィロプシン卓越であれば降海行動を抑制することになるでしょう。こうした行動の制御が光によって可能になるかも知れません。また、降海する際には浸透

圧調節能が備わっていませんが、塩分耐性実験の結果 (図9) から、青色LED光環境下で飼育されてロドプシン比が80%まで上昇した個体群では海水移行の準備も備わっていると考えられます (Alexander *et al.*, 1994)。

すなわち、降海回遊するサケにとって沿岸環境が未だ整っていない場合には、ロドプシンの発現を抑制することによって降海回遊を遅らせるために、飼育池の水温を下降させたり、ポルフィロプシンの発現が期待できる長波長光で照明する方法が考えられるかも知れません。逆に降海回遊時期を早めるためには、ロドプシンの発現を誘引するために飼育池の水温を上昇させたり、明期の長い短波長光を照射する方法が考えられます。

## おわりに

今後、シロサケ *Oncorhynchus keta* を供試魚とする検証試験が実施されることを期待しますが、本稿で紹介しました光を利用した魚類の行動制御に関するアイディアは60年以上も前に桑田 (1961) が論じています。氏は植物の開花や動物の繁殖行動が光と密接な関係にあることから、魚類に対しても光を利用して同様な効果を期待できるのではないかと考えました。そして、さけます増殖事業への応用を提案しています。しかし、この提案が実行されずに今に至っているのは、対象とする魚類の光感覚を知る技術や光そのものの計測技術が当時は未発達であったことが理由ではないかと想像します。この提案をさらに遂行していくことが出来る技術が現在は整っています。

先人の念いを謙虚に受け止め、継往開来の精神で研究を発展させていくことの大切さに気付かされました。

## 参考文献

- Alexander, G., Sweeting, R. and Mckeown, B.: The shift in visual pigment dominance in the retinae of juvenile Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*): An indicator of smolt status. *J. Exp. Biol.*, **195**, 185-197 (1994).
- Dartnall, H. J. A.: The interpretation of spectral sensitivity curves. *British Medical Bulletin*. **9**, 24-30. (1953).
- Hasegawa, E.: Changes in rhodopsin-

- porphyropsin ratio of chum and pink salmon. *Fish. Sci.*, **71**, 1091-1097 (2005).
- 長谷川英一：総説 水産上重要な通し回遊魚, サケ・マスの視覚メカニズムとその資源生物学的意味. *比較生理生化学*, Vol.25. No.4, 156-164 (2008).
- Hayasaka, O., Takeuchi, Y., Shiozaki, K., Anraku, K. and Kotani, T.: Threshold and spectral sensitivity of vision in medaka *Oryzias latipes* determined by a novel template wave matching method. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, Volume **251**, (2019).
- 桑田治：あるアイディア —生物の繁殖と光との関係— 魚と卵, **89**号, 7-10 (1961).
- Suzuki, T., Makino-Tasaka, M. and Eguchi, E.: 3-Dehydroretinal (vitamin A<sub>2</sub> aldehyde) in crayfish eye. *Vision Res.*, **24**, 783-787 (1984).
- Temple, S. E., S. D., Ramsden, T. J. Haimberger, K. M. Veldhoen, N. J. Veidhoen, N. C. Carter, W. M. Roth and C. W. Hawryshyn: Effects of exogenous thyroid hormones on visual pigment composition in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *J. Exp. Biol.*, **211**: 2134-2143 (2008).
- 浦野明央, 北橋隆史, 安東宏徳：母川回帰の機構と遺伝的背景, 前田光司 編：サケ・マスの生態と進化. pp.107-136, 文一総合出版. 東京 (2004).
- 山上健次郎, 嶋昭紘：メダカ—現代生物学への貢献—, 江上信雄, 山上健次郎, 嶋昭紘 編：メダカの生物学. pp.3-4, 東京大学出版会. 東京 (1990).

### 謝辞

本研究遂行に当たりスティック型LED照明ユニットを貸与していただきましたスタンレー電気株式会社の古藤澄久氏に感謝申し上げます。また、本研究成果を公表する機会をいただきました一般社団法人 海洋水産システム協会に御礼申し上げます。

